



Universidade Federal de São Paulo
Campus Diadema



Bianca Meira Gonçalves Flores

Relação entre as taxas metabólicas padrão e a ocorrência de depressão
metabólica em anfíbios anuros

Diadema

2021

Bianca Meira Gonçalves Flores

Relação entre as taxas metabólicas padrão e a ocorrência de depressão metabólica em anfíbios anuros

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, ao Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema.

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Cury de Barros

Diadema

2021

Flores, Bianca Meira Gonçalves

Relação entre as taxas metabólicas padrão e a ocorrência de depressão metabólica em anfíbios anuros / Bianca Meira Gonçalves Flores.

Diadema, 2021.

34 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) -
Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema, 2021.

Orientador: José Eduardo de Carvalho

Coorientador: Fábio Cury de Barros

1. Anura. 2. Metabolismo. 3. Depressão metabólica. 4. Taxa metabólica padrão. I. Título.


Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema

Bianca Meira Gonçalves Flores

Relação entre as taxas metabólicas padrão e a ocorrência de depressão
metabólica em anfíbios anuros

Monografia apresentada como requisito
parcial para a obtenção do título de
bacharel do curso de Ciências Biológicas.

Aprovado em: 22/02/2021



Assinatura

Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho

Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema



Assinatura

Prof. Dr. Marcelo José Sturaro

Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema



Assinatura

Danilo Giacometti dos Santos Uehara Oliveira

Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema

Diadema

2021

AGRADECIMENTOS

- A Deus, em primeiro lugar, por me permitir viver e concluir este sonho de me formar em uma das melhores universidades do país, na área que escolhi para mim. Sou grata todos os dias de minha vida.
- Ao Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho, por me apresentar a ideia deste trabalho e que sempre, mesmo durante uma pandemia, se mostrou disponível, disposto e paciente a me auxiliar no que fosse preciso. Começamos com um projeto simples, mas suas ideias e motivação fizeram este trabalho ir mais longe. Para mim é um orgulho te ter como orientador e trabalhar com você.
- Ao Prof. Dr. Fábio Cury de Barros, pela disponibilidade em participar e nos ajudar com todas as análises. Suas ideias, sugestões e conhecimentos foram fundamentais para a realização deste projeto.
- Aos meus pais, Elisângela e Valmir, por sempre me apoiarem e me motivarem a seguir meus sonhos. Sou imensamente grata pela oportunidade que vocês me deram de escolher e seguir meu caminho na Biologia, e por todo amor que recebi e recebo todos os dias. Sem vocês, isso não seria possível. Todo o meu amor a vocês.
- Aos queridos amigos que tive o prazer de conhecer durante a graduação. Sou grata por cada ajuda, risada, abraço, correção e motivação que recebi. Vocês são pessoas incríveis e todos contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui.
- A todos os professores que tive durante a graduação, que fizeram dessa experiência única e enriquecedora. Nunca me esquecerei desses momentos e de todo aprendizado.

RESUMO

Em vertebrados ectotérmicos, as atividades metabólicas são diretamente relacionadas com as condições ambientais. Caso as condições do ambiente se tornem desfavoráveis, algumas espécies podem ingressar em um estado de depressão metabólica com o intuito de poupar energia. Esse estado de hipometabolismo é uma alternativa usada por vários grupos de ectotérmicos, inclusive os anfíbios anuros, que são utilizados como modelo para este trabalho. Para compreender melhor como as taxas metabólicas padrão de alguns anfíbios anuros estão relacionadas com eventos de depressão metabólica, analisamos dados já existentes na literatura sobre o assunto. Especificamente, testamos a hipótese de que espécies de anuros que exibem eventos de depressão metabólica são aquelas com maiores taxas metabólicas padrão quando comparadas com espécies que não possuem esse tipo de mudança no metabolismo. A partir dos dados que obtivemos, conduzimos as análises usando o método comparativo filogenético (PGLS). Em linhas gerais, nossos resultados indicaram não haver diferença entre as taxas metabólicas de espécies que exibem algum evento de depressão metabólica quando comparadas às espécies que não exibem hipometabolismo. Adicionalmente, comprovamos que não existe uma estruturação filogenética das taxas metabólicas, além da massa corpórea das espécies explicar cerca de 40% da variação das taxas metabólicas. Portanto, não corroboramos nossa hipótese e sugerimos que existam outros fatores que influenciam os as taxas metabólicas padrão e os eventos de depressão metabólica em anuros.

Palavras-chave: Anura. Metabolismo. Depressão metabólica. Taxa metabólica padrão.

ABSTRACT

In ectothermic vertebrates, metabolic activities are directly related to the environmental conditions. If the environmental conditions become unfavorable, some species may enter in a state of metabolic depression in order to save energy. This state of hypometabolism is an alternative used by several groups of ectotherms, including anuran amphibians, which are used as a model for this work. To better understand how the standard metabolic rates of some anuran amphibians are related to metabolic depression events, we analyzed data already existing in the literature on the subject. Specifically, we tested the hypothesis that anuran species that exhibit metabolic depression events are those with higher standard metabolic rates when compared to species that do not have this type of metabolism change. From the data we obtained, we conducted the analyzes using the phylogenetic comparative method (PGLS). In general, our results indicated that there is no difference between the metabolic rates of species that exhibit some event of metabolic depression when compared to species that do not exhibit hypometabolism. Additionally, we prove that there is no phylogenetic structuring of metabolic rates, in addition to the species' body mass explaining about 40% of the variation in metabolic rates. Therefore, we did not corroborate our hypothesis and suggest that there are other factors that influence the standard metabolic rates and the events of metabolic depression in anurans.

Key-words: Anuran. Metabolism. Metabolic depression. Standard metabolic rate.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO E HIPÓTESE.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Coleta de dados.....	11
3.2. Análise comparativa filogenética.....	12
3.2.1. Conferência e dimensionamento dos dados.....	13
3.2.2. Cálculo do sinal filogenético.....	13
3.2.3. PGLS.....	14
4. RESULTADOS.....	15
4.1. N amostral e estatística descritiva.....	15
4.2. Sinal filogenético.....	17
4.3. ANCOVA filogenética.....	17
5. DISCUSSÃO.....	19
5.1. Relações filogenéticas e taxas metabólicas.....	20
5.2. Depressão metabólica e taxas metabólicas.....	21
5.3. Massa corpórea e taxas metabólicas.....	22
5.4. Outras perspectivas sobre a ocorrência de depressão metabólica.....	22
6. CONCLUSÃO.....	23
7. REFERÊNCIAS.....	24

1. INTRODUÇÃO

Os vertebrados ectotérmicos são animais que dependem de fontes externas de calor para regular suas temperaturas corpóreas e, conseqüentemente, controlarem as taxas com que os processos fisiológicos ocorrem (Angiletta et al., 2002). Isso acontece porque, nestes animais, as temperaturas, ambiente e corpórea, encontram-se em equilíbrio na maior parte do tempo, o que implica que o desempenho para uma determinada atividade deve ser, em parte, limitado pela temperatura corpórea (Angiletta, 2009). Muitos animais ectotérmicos encontram alguma, se não substancial, variação diária e sazonal na temperatura corporal (T_b) devido a flutuações no ambiente térmico (Carey, 1979).

Um dos mais importantes processos afetados pela temperatura nos vertebrados ectotérmicos é a taxa metabólica padrão, a qual se refere à quantidade de energia química necessária para a manutenção das funções vitais do organismo, num determinado período de tempo (Ferreira et al., 2009). Em geral, a taxa metabólica padrão representa o gasto energético em condições onde o animal se encontra inativo, saudável, não estressado, fora do processo digestivo (ou pós-prandial) e também fora do período reprodutivo (Schmidt-Nielsen, 2002). Assim, a taxa metabólica padrão é uma variável que informa sobre o custo de manutenção em uma determinada temperatura, sendo utilizada como referência para testar efeitos de diferentes fatores sobre a ciclagem energética nos ectotérmicos, assim como para comparação entre espécies (Angiletta, 2009).

Ao observarmos os modos de vida dos vertebrados ectotérmicos, bem como os diferentes ambientes que estes ocupam, podemos notar uma considerável diversidade interespecífica e uma interação de diversas formas com o ambiente térmico (Andrade et al., 2016). Por isso, podemos esperar que mudanças sazonais na temperatura, na disponibilidade de recursos alimentares ou no balanço hídrico podem influenciar de forma direta o metabolismo desses animais (Navas et al., 2008). De um modo geral, quando as condições desses ambientes se tornam desfavoráveis, alguns ectotérmicos exibem algum tipo de depressão metabólica, que é uma redução da taxa metabólica abaixo do valor normal de repouso (Guppy e Withers, 1999).

Alguns exemplos de depressão metabólica em vertebrados ectotérmicos são a hibernação (relacionada a uma diminuição drástica da temperatura corpórea), a anaerobiose (em resposta à diminuição nos níveis de oxigênio), a tolerância ao congelamento (quando ocorre congelamento verdadeiro dos órgãos) e a estivação (resposta à diminuição da

disponibilidade de água no ambiente) (Storey e Storey, 1990). O período de inatividade depende das condições do ambiente e da espécie em questão, podendo variar de alguns dias ou semanas consecutivas, a até uma estação inteira (Cooper, 2010). Nesses casos, as taxas metabólicas são reduzidas drasticamente poupando energia enquanto durarem as condições desfavoráveis e/ou de estresse no ambiente (Guppy, 2004).

As modificações fisiológicas exibidas pelos organismos, que permitem com que os grupos lidem com os desafios impostos pelos ambientes que ocupam, tendem a ser similares em diferentes linhagens – o que representa um paralelismo evolutivo (Rossi, 2020; Elias & Tawfik, 2012; Bolnick et al., 2018). Tais modificações normalmente estão relacionadas à regulação das reações bioquímicas que ocorrem nas células em todos os órgãos, por exemplo, a repriorização de funções celulares para conservar o uso de energia, e outros mecanismos (Storey, 2015).

Além disso, é possível que para as espécies que apresentam relativas altas taxas metabólicas, ingressar em um estado de hipometabolismo possa ser a única alternativa quando os recursos do ambiente limitam a manutenção da atividade diária (Hillman et al., 2009). Assim, espécies que possuem altas taxas metabólicas seriam mais propensas a exibir episódios de depressão metabólica em comparação com aquelas cujo custo de manutenção seja menor. Apesar de plausível, esta hipótese não foi formalmente testada entre os ectotérmicos até o momento.

Os anfíbios anuros constituem um grupo bastante diverso dentre os vertebrados ectotérmicos quanto à morfologia, fisiologia e o comportamento, além de estarem presentes em uma grande variedade de habitats (Wells, 2007). Um dos maiores desafios desses organismos é que o metabolismo e a termorregulação não são apenas acoplados, mas também controlados por fatores externos, como a temperatura ambiente (Mokhatla et al., 2019), e, algumas espécies manifestam um estado de hipometabolismo em decorrência de mudanças nas condições desses ambientes que ocupam (Hillman et al., 2009).

Dentre esses casos de depressão metabólica em anuros, o mais comumente observado é o estado de inatividade, conhecido como “estivação”, caracterizado por um conjunto de mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e comportamentais que aumentam a sobrevivência durante as estações e períodos de seca, associados à baixa disponibilidade de água e altas temperaturas (Ferreira-Cravo et al., 2010; Carvalho et al., 2010). Em anuros que habitam regiões áridas e semiáridas, a estivação ocorre em resposta a um ambiente seco e pode durar por períodos que variam de semanas a anos, dependendo da espécie (Groom et al., 2013). Outras poucas espécies também exibem formas alternativas de depressão metabólica

como estratégia de conservação de energia, como espécies escavadoras e outras que formam um casulo epidérmico conhecido como “cocoon” (Withers & Thompson, 2000). Por essa razão, os anfíbios anuros são interessantes para se estudar como ocorrem as relações entre as condições do ambiente e as respostas metabólicas. A literatura é relativamente abrangente quanto a estudos sobre as taxas metabólicas de anfíbios anuros, o que nos permite conduzir uma análise ampla sobre a evolução das taxas metabólicas e sua relação com a ocorrência de eventos de depressão metabólica nesses animais.

Neste trabalho, partimos da premissa já demonstrada na literatura de que a depressão metabólica é um mecanismo que visa poupar energia durante períodos desfavoráveis. Assim, propomos testar se as espécies que possuem altas taxas metabólicas padrão seriam as mais propensas a ingressarem em estado hipometabólico quando as condições ambientais se tornam adversas. Podemos nos perguntar se as espécies de anfíbios anuros que exibem algum tipo de depressão metabólica possuem custos de manutenção básicos (taxa metabólica padrão) mais altos quando não estão em hipometabolismo. Portanto, este trabalho compara dados já disponíveis na literatura, e testa a hipótese de que *“as espécies de anuros nas quais há registro de hipometabolismo, por algum período do ano, são aquelas que possuem as maiores taxas metabólicas padrão em comparação com as espécies que não exibem esse tipo de mudança drástica no metabolismo”*.

A compreensão de que as comparações interespecíficas devem considerar a história evolutiva das espécies resultou em mudanças profundas nos estudos comparativos durante as últimas décadas. Esses métodos aumentaram muito os tipos e qualidades de inferências que podem ser extraídas de dados comparativos e abriram novos campos de pesquisa em fisiologia que ainda estão em desenvolvimento (Rezende & Diniz-Filho, 2012; Felsenstein, 1985;). Isso porque o emprego de análises filogenéticas em estudos comparativos é fundamental para corrigir os graus de liberdade da análise estatística, evitando erros de interpretação dos resultados. O uso desse método requer a disponibilidade de uma topologia bem suportada, que reflita a evolução das relações entre as linhagens estudadas (Garland et al., 2005).

2. OBJETIVO E HIPÓTESE

Nosso objetivo com esse trabalho foi investigar de que forma as taxas metabólicas padrão de algumas espécies de anfíbios anuros estão relacionadas com eventos de depressão metabólica, em alguma de suas manifestações. Especificamente, fizemos um levantamento de

informações disponíveis na literatura a respeito das taxas metabólicas padrão em anuros e, através de uma análise comparativa considerando as relações filogenéticas entre as espécies, buscamos testar a hipótese de relação positiva entre o custo de manutenção e a ocorrência de eventos de depressão metabólica. Este trabalho contribui para a ampliação do conhecimento geral sobre o metabolismo energético de anfíbios anuros e como estas espécies lidam com as condições ambientais, de modo a aumentar a compreensão de como estados de hipometabolismo estão relacionados com taxas metabólicas padrão mais altas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta de dados

Realizamos um amplo levantamento dos artigos disponíveis referentes ao metabolismo de anfíbios anuros, além de uma revisão da bibliografia existente para coletar dados sobre as “taxas metabólicas padrão”, ou “taxas metabólicas de repouso”, do maior número de espécies possível. Com esse levantamento, buscamos por resultados já publicados sobre espécies que manifestam algum estado de hipometabolismo (estivação ou hibernação), assim como de espécies que não exibem nenhum tipo de depressão metabólica.

Usamos as plataformas de dados acadêmicos “*Web of Science*” e “*Google Scholar*”, para encontrar artigos existentes sobre o assunto. Nossas pesquisas contaram com as seguintes variáveis de interesse: ‘espécie’, ‘taxa metabólica padrão’ ou ‘taxa metabólica de repouso’, ‘taxa metabólica em atividade’, ‘taxa metabólica durante a depressão metabólica’, ‘massa corpórea’ e ‘temperatura’ em que as medidas foram realizadas. Realizamos as buscas bibliográficas a partir de combinações das palavras-chave ‘amphibia’ e ‘anura’ com pelo menos um dos termos ‘metabolic rate’, ‘oxygen consumption’, ‘metabolic depression’, ‘estivation’ ou ‘standard metabolic rate’ sobre o assunto, juntamente com os rótulos de campo e *booleanos* da própria plataforma.

Em geral, os diversos autores utilizam como um indicativo das taxas metabólicas padrão ou de repouso as “taxas de consumo de oxigênio específicas (VO_2)” relacionadas com o metabolismo aeróbio dos animais. A VO_2 é expressa em ‘variação do volume de gás’ por unidade de tempo (volume de O_2 consumidos por unidade de tempo e por unidade de massa corpórea expressa como, por exemplo, $mLO_2/h/g$). Nos casos em que os artigos utilizados não especificavam o tamanho dos indivíduos estudados, buscamos por esta informação em outros

artigos, livros ou sites de literatura referenciais sobre anfíbios anuros (como “*Amphibia Web*”).

Assim, filtramos os dados que encontramos e os organizamos em uma planilha no Excel (Microsoft Corp.) e, posteriormente, convertimos os valores compilados para uma mesma unidade de medida ($\text{mLO}_2/\text{h/g}$) e para uma mesma temperatura (20°C), possibilitando assim a comparação entre eles. Para as correções para uma mesma temperatura, utilizamos um coeficiente de temperatura (conhecido como Q_{10}) de 2.5, por ser este o valor mais comum aos efeitos da temperatura sobre o metabolismo de organismos ectotérmicos (Schmidt-Nielsen, 2002; Stuginski et al., 2017).

3.2. Análise comparativa filogenética

Após a organização dos dados, utilizamos a hipótese filogenética proposta por Pyron (2014), por ser a mais recente e abrangente para o grupo de anuros, para testarmos a evolução da taxa metabólica padrão de modo comparativo (Frost et al., 2006). O uso de métodos comparativos filogenéticos é de extrema importância em trabalhos desse tipo, uma vez que as espécies compartilham ancestrais no tempo e, portanto, não são independentes (Felsenstein, 1985; Diniz-Filho, 2000). Para isso realizamos uma abordagem similar à realizada por Stuginski e colaboradores (2017), utilizando a plataforma *R* versão 4.0.3 e o programa *RStudio* versão 1.3.1056 para as análises estatísticas.

Inicialmente testamos a evolução das taxas metabólicas padrão em anfíbios anuros *per se*, por meio de um teste de sinal filogenético e, em seguida, comparamos as taxas de consumo de oxigênio (VO_2) das espécies que exibem algum tipo de hipometabolismo com aquelas das espécies que não manifestam qualquer tipo de depressão metabólica. Neste último passo, utilizamos a regressão filogenética (*phylogenetic generalized least-squares regression* - PGLS) para testar o grau de dependência entre o VO_2 e a ocorrência ou não de depressão metabólica entre as espécies, incluindo a massa corpórea como covariável (Stuginski et al., 2017). Assumimos 0.05 como nível de significância em todas as análises. O detalhamento específico está descrito nas seguintes subseções.

Para algumas espécies que encontramos dados de VO_2 , os respectivos artigos não especificavam a massa corpórea dos indivíduos estudados, assim como não havia esta informação disponível em outras fontes de consulta. Nesses casos, resolvemos retirar essas espécies das nossas análises, para que não houvesse erro de informação faltante durante as análises no software *RStudio*. Da mesma forma, retiramos das análises as espécies para as

quais encontramos dados de VO_2 , mas não estavam presentes na filogenia que usamos como base. Por fim, desconsideramos da filogenia de Pyron (2014) todas as espécies de anfíbios não anuros e as que não estavam no nosso banco de dados.

3.2.1 Conferência e dimensionamento dos dados

Primeiramente, alguns dos artigos selecionados que traziam informações de taxas metabólicas aferidas, não especificavam a massa corpórea dos indivíduos estudados. Como a informação faltante foi menor do que 10% dos casos, essas espécies foram retiradas das nossas análises corrigindo o erro de informação faltante de acordo com Gotelli & Ellison (2011). Da mesma forma, recortamos do conjunto de dados as espécies para as quais existiam valores de massa e taxa metabólica disponíveis, mas não estavam presentes na filogenia que usamos como base.

O último passo foi desconsiderar da filogenia de Pyron (2014) todas as espécies de anfíbios que não estavam contempladas no nosso banco de dados. Para tanto, utilizamos a função *'drop.trip'* relativa ao pacote *'ape'* (Paradis & Schliep, 2019). Fizemos a intersecção das espécies contidas na filogenia de Pyron (2014, ver figura 1) com as espécies contidas no nosso banco de dados, para garantir a equivalência de ordem de ambas através da função *'intersect'*, pertencente ao mesmo pacote em *RStudio*.

Após redimensionar o conjunto de dados, realizamos a estatística descritiva incluindo o cálculo da média dos valores, que contém nosso n amostral e a média dos valores de VO_2 para espécies com ou sem eventos de depressão metabólica, e outras informações, como o intervalo de confiança, desvio padrão, máximo e mínimo, utilizando o pacote *'psych'* (Revelle, 2020) (fig.2). A normalidade e homocedasticidade foram testadas por meio do pacote *'fitdistrplus'* (Delignette-Muller and Dutang, 2015), e a foi realizada a logaritimização das variáveis (i.e. taxa metabólica e massa corpórea), que confirmou uma distribuição normal e homogênea dos dados.

3.2.2. Cálculo do sinal filogenético

O sinal filogenético sobre as taxas metabólicas padrão das espécies, foi calculado como uma indicação do grau de plasticidade da variável. O sinal filogenético com valores altos é um indicativo de que, as diferenças observadas entre as linhagens na variável em

questão seguem um padrão estruturado ao longo do tempo evolutivo. Em contrapartida, um sinal filogenético baixo reflete taxas de evolução mais variáveis para a característica entre espécies-irmãs (Blomberg et al., 2003). Para este cálculo, utilizamos duas metodologias, a proposta por Blomberg e colaboradores, (2003), onde o sinal filogenético é determinado pelo índice K , e o cálculo do lambda de Pagel (Pagel, 1999). Em ambos, o sinal filogenético pode variar entre 0 e 1. Quando o sinal filogenético é 0, ou mais próximo de 0, representa a plasticidade fenotípica da variável – ou seja, a evolução da característica reflete uma filogenia estelar, com independência dos dados em relação à história evolutiva do grupo. Quando é igual ou mais próximo de 1, reflete um modelo de evolução estruturado filogeneticamente, em que os valores de VO_2 de espécies irmãs, tendem a se parecer entre si. O sinal filogenético dos valores de VO_2 foi calculado pela função ‘*phylosig*’ do pacote ‘*phytools*’ (Revell, 2012), e a opção pela utilização dos dois índices se reflete no fato de que o K de Blomberg pode ser mais sensível à variação quando utilizado com um ‘n amostral’ reduzido (i.e. abaixo de 100) (Munkemuller et al. 2012).

3.2.3. PGLS

Testamos a relação dos valores de VO_2 em função dos grupos (que entram ou não em depressão metabólica), usando a massa corpórea de cada espécie como uma covariável no modelo, em uma base filogenética (ANCOVA filogenética). Usamos na análise a estrutura de correlação derivada de um modelo de evolução por movimento browniano via ‘*corPagel*’ (package ape - Paradis et al. 2004), com valor de lambda (λ) fixo em 1 (um), 0 (zero) e 0,5. Os modelos foram testados pela função ‘*gls*’ no pacote ‘*phytools*’ (Revell, 2009), inicialmente usando a interação entre os termos *massa*grupo*. Como o fator de interação não foi significativo em nenhuma instância, os modelos foram reduzidos – excluindo-se os termos de interação (seguindo Burnham e Anderson, (2002)). Usamos o critério de avaliação de Akaike de amostras reduzidas (AICc) para selecionar o modelo com melhor ajuste nos resíduos. Modelos com uma diferença igual ou menor a 2 (delta AICc < 2) foram considerados equivalentes (Burnham e Anderson, 2002).

Modelos selecionados com valor de lambda igual a 1 indicam que os resíduos da relação entre a variável resposta e as variáveis preditoras evoluem segundo a relação entre as espécies (ou seja, o que sobra da variação da taxa metabólica padrão evoluiu segundo as relações de parentesco entre as espécies). Valor de lambda igual a 0 indica que os resíduos da regressão não seguem uma estrutura filogenética e, portanto, são plásticos. E, se lambda igual

a 0,5, indica que a variação nos resíduos é parcialmente estruturada. O resultado do modelo final para a regressão filogenética (PGLS) foi confirmado com os pacotes ‘*caper*’ (Orme et al., 2018) e ‘*phytools*’.

4. RESULTADOS

4.1. N amostral e estatística descritiva

Encontramos registros de VO_2 para 73 espécies de anfíbios anuros. Utilizando nossos critérios para seleção de dados, concluímos o trabalho com uma árvore filogenética ultramétrica com 62 espécies com registros válidos (fig.1). Estas espécies estão distribuídas entre as famílias seguintes famílias (número de espécies): *Hylidae* (19), *Bufo* (10), *Rana* (5), *Hyperoliidae* (4), *Dendrobatidae* (4), *Eleutherodactylidae* (3), *Leptodactylidae* (3), *Microhylidae* (3), *Myobatrachidae* (3), *Alytidae* (1), *Bombinatoridae* (1), *Ceratophryidae* (1), *Dicroglossidae* (1), *Odontophrynidae* (1), *Pipidae* (1), *Pyxicephalidae* (1), *Scaphiophrynidae* (1). Os valores que encontramos estão disponíveis no anexo I, juntamente com as referências dos trabalhos, e a tabela 1 traz a descrição dos valores médios, n amostral, e desvios por grupo metabólico.

Tabela 1. Estatística descritiva sobre os valores de taxa de consumo de oxigênio em repouso (VO_2 em $\text{mLO}_2/\text{h/g}$) e a massa corpórea (BM, em gramas) das espécies de anfíbios anuros que exibem depressão metabólica e daquelas que não manifestam esse comportamento;

variável	grupo	n	média	dp	mediana	min	máx	ep
VO₂	Depressão	10	0,06	0,03	0,05	0,02	0,10	0,01
VO₂	Sem depressão	52	0,08	0,06	0,06	0,01	0,41	0,01
BM	Depressão	10	86,47	162,08	21,33	5,11	520,00	51,25
BM	Sem depressão	52	30,33	51,43	7,13	0,28	238,00	7,13

Número amostral, representando o número de espécies (n); desvio padrão (dp); erro padrão (ep); mínimo (min), máximo (máx) e mediana dos valores.

4.2. Sinal filogenético

Utilizando as 62 espécies do nosso banco de dados, identificamos que o sinal filogenético das taxas metabólicas padrão foi [$K=0,1627$], ou seja, não foi significativo. O resultado do K de Blomberg foi convergente com os valores de sinal filogenético para lambda de Pagel e o valor de p não foi significativo, [$6,6107^{-05}$, $p=1$] indicando que a taxa metabólica padrão entre as 62 espécies amostradas evoluiu plasticamente.

4.3. ANCOVA filogenética

A relação da taxa metabólica de repouso com as variáveis preditoras pode ser explicada pela massa corpórea, mas não varia entre grupos que exibem ou não exibem depressão metabólica. No caso, os valores de VO_2 decaem com o aumento da massa corpórea (relação é negativa), mostrando que indivíduos maiores têm proporcionalmente taxas de consumo de oxigênio específicas mais baixas em relação a indivíduos menores (figura 2).

Além disso, não há diferença entre as medidas dos valores de VO_2 entre as espécies de anuros que exibem algum tipo de depressão metabólica em comparação com as espécies que não exibem este fenômeno (tabela 1).

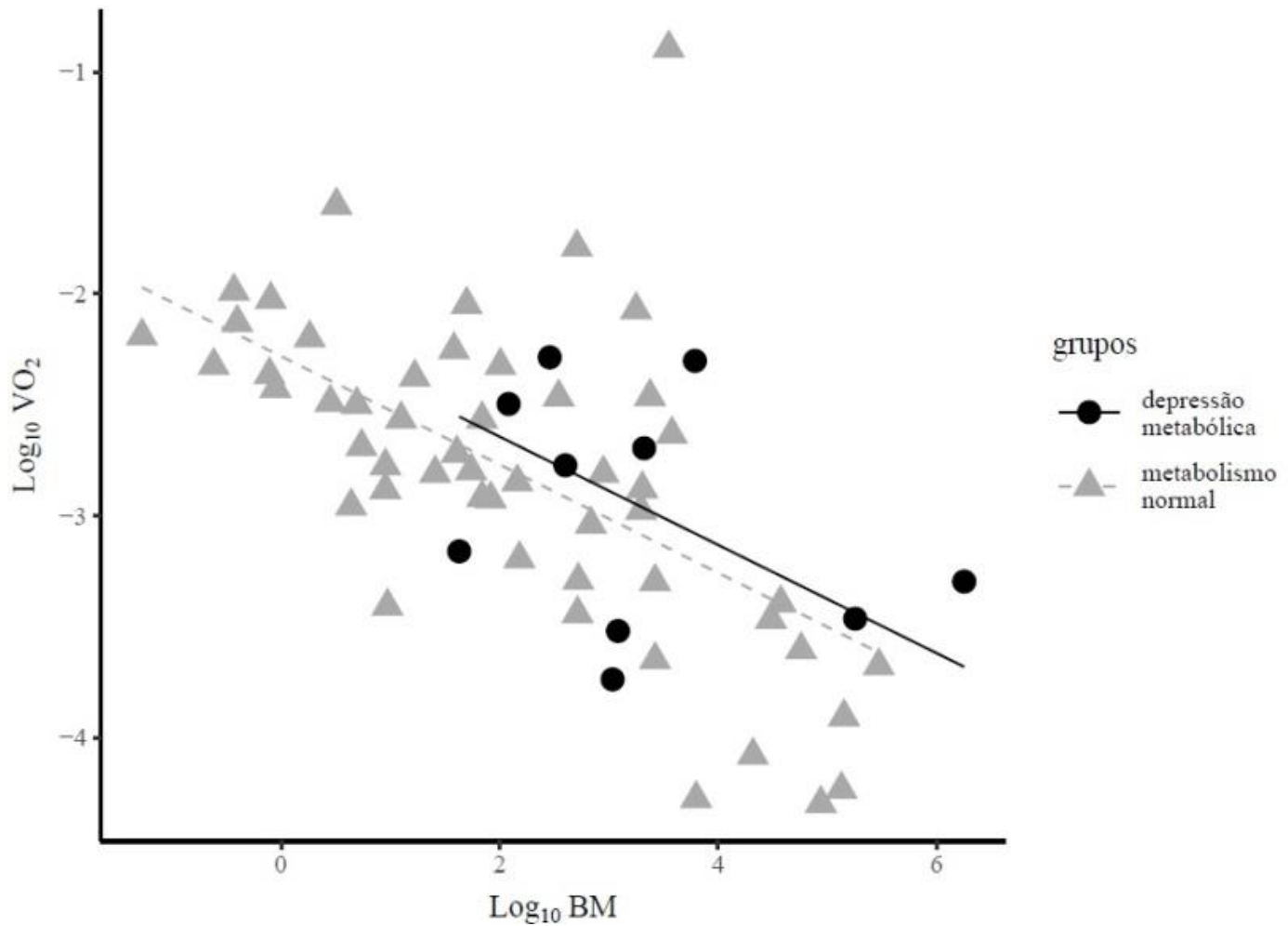


Figura 2. Regressão filogenética entre *log* da taxa de consumo de oxigênio padrão (VO₂ em mL O₂/g/h) e o *log* da massa corpórea (BM) com das espécies que exibem depressão metabólica (círculos) e as espécies que não exibem depressão metabólica (triângulos).

No melhor modelo selecionado ($\lambda=0$), a massa corpórea explicou cerca de 40% da variação no VO₂ de repouso, embora as medidas do consumo de oxigênio entre grupos foram similares (tabela 1, tabela 2). Outro ponto é que, a seleção do melhor modelo com lambda igual a 0 (modelo 2 da tabela 2), indica que os resíduos da regressão filogenética são plásticos, não possuem estruturação filogenética (figura 3). Isto significa que parte da variação das taxas metabólicas padrão, que não é explicada pela massa corpórea, mudou segundo outros parâmetros evolutivos que não o grau de parentesco das espécies.

Tabela 2. Modelos de evolução (PGLS) simplificados para uma matriz de correlação com $\lambda=1$ (Modelo 1, M1), $\lambda=0$ (Modelo 2, M2) e $\lambda=0,5$ (Modelo 3, M3). Os valores de AICc e peso (weight) para cada modelo estão expressos nas últimas linhas da tabela. Siglas: logaritmo do consumo de oxigênio à 20°C ($\log_{10} \text{VO}_{220^\circ\text{C}}$); logaritmo da massa corpórea ($\log_{10} \text{BM}$); nível de significância * $p<0,1$; ** $p<0,05$; *** $p<0,001$.

Modelos de evolução			
<i>Variável dependente</i>			
	$\log_{10} \text{VO}_{220^\circ\text{C}}$		
	M1 ($\lambda=1$)	M2 ($\lambda=0$)	M3 ($\lambda=0,5$)
$\log_{10} \text{BM}$	-0.246*** (0.063) $t = -3.899$ $p = 0.0001$	-0.244*** (0.043) $t = -5.710$ $p = 0.000$	-0.271*** (0.047) $t = -5.715$ $p = 0.000$
Grupos	-0.151 (0.286) $t = -0.527$ $p = 0.599$	-0.126 (0.197) $t = -0.638$ $p = 0.524$	-0.222 (0.238) $t = -0.929$ $p = 0.353$
Constante	-2.097*** (0.777) $t = -2.698$ $p = 0,007$	-2.155*** (0.226) $t = -9.546$ $p < 0,001$	-1.991*** (0.351) $t = -5.676$ $p < 0,001$
Obs. (n espécies)	62	62	62
Delta AICc	55.48	0.00	6.40
Weight	0.00	0.96	0.04
Akaike Inf. Crit. (AICc)	162.594	107.118	113.516
Note:	* $p < 0.1$ ** $p < 0.05$ *** $p < 0.01$		

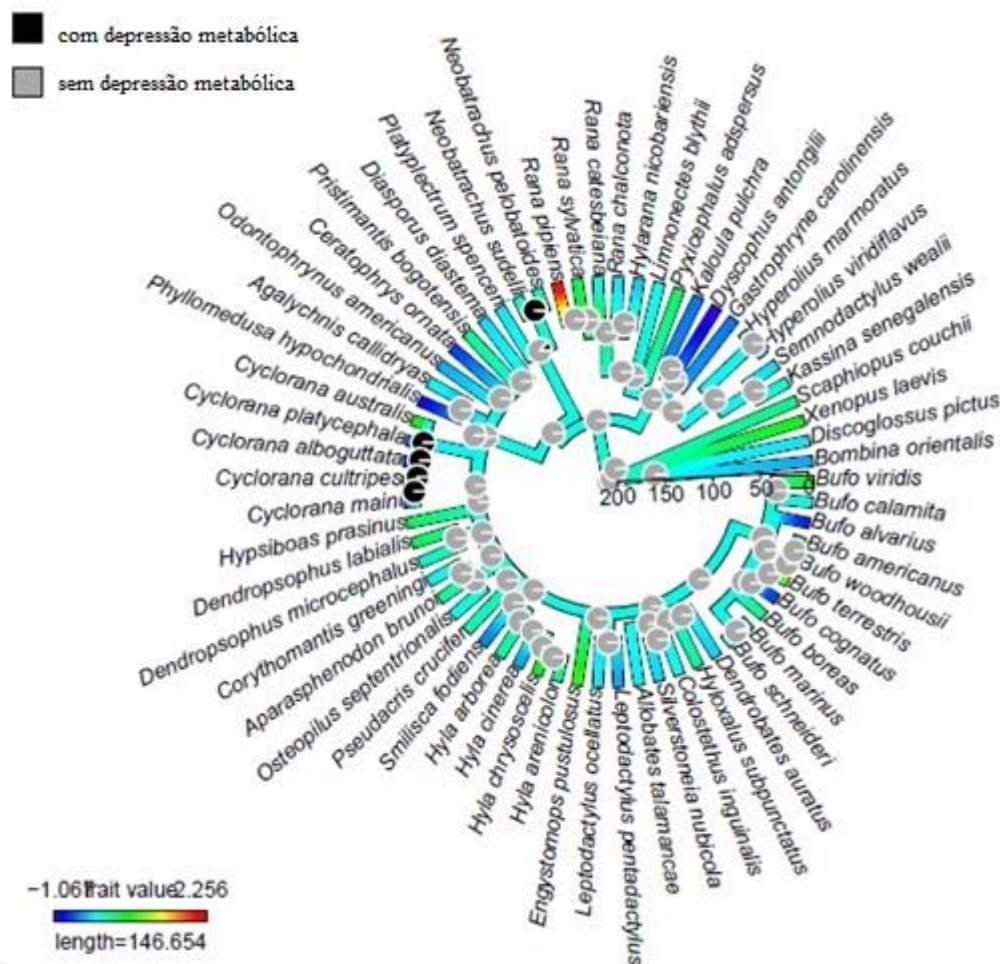


Figura 5. Reconstrução ancestral com base no critério de máxima verossimilhança. As cores de azul (negativo) a vermelho (positivo) representam valores correspondentes aos resíduos da VO_2 de repouso das espécies de anuros e sua evolução ao longo da filogenia. Os gráficos de setores representam as proporções de ramos que exibem e não exigem depressão metabólica sobre os nós da filogenia. A figura foi construída com base na hipótese filogenética proposta por Pyron (2014).

5. DISCUSSÃO

5.1. Relações filogenéticas e taxas metabólicas

Neste trabalho reunimos informações a respeito das taxas metabólicas padrão de 62 espécies de anfíbios anuros, distribuídas entre 17 famílias. Tomando como base os baixos valores de sinal filogenético (K próximo a zero; ver Blomberg et al., 2003), concluímos que não há estruturação filogenética das taxas metabólicas padrão em anuros. Assim, as taxas

metabólicas padrão (ou de repouso) são, sob perspectiva, plásticas na história evolutiva de anfíbios anuros, provavelmente sofrendo interferência de outros fatores ambientais, fisiológicos ou comportamentais (Wells, 2007). É bem discutido na literatura, espécies que escavam e se enterram em substratos para fugir da desidratação, outras que formam um tipo de casulo, eficaz contra a perda de água por evaporação, entre outras estratégias (Glass et al., 1997; Withers & Thompson, 2000).

5.2. Depressão metabólica e taxas metabólicas

O fato de algumas espécies de anuros apresentarem depressão metabólica, não esteve relacionado a uma maior taxa metabólica padrão. Dessa forma, rejeitamos nossa hipótese inicial de que haveria um compromisso entre o custo de manutenção, estimado pela taxa metabólica padrão, e a manifestação de uma redução drástica do metabolismo quando as condições do ambiente se tornam desfavoráveis (ver Carvalho et al., 2010 para exemplos). Embora tenhamos refutado esta hipótese, sabemos que fatores que interferem direta ou indiretamente na taxa metabólica desses animais, estão relacionados também com a queda do metabolismo e ocorrência de depressão metabólica.

A manutenção da temperatura corpórea ótima em anfíbios anuros é dada, principalmente, por meios comportamentais como a seleção de microclimas adequados, determinando assim como essas espécies interagem com o seu ambiente (Mokhatla et al., 2019). Além de ser crucial para a taxa metabólica padrão, a temperatura corpórea também é crucial para outro processo fisiológico, a perda de água por evaporação. A perda de água por evaporação é particularmente pronunciada em anuros devido à alta umidade e pele permeável e, as evidências sugerem que as espécies que ocupam diferentes nichos ecológicos mostram diferenças pronunciadas nas taxas de perda de água por evaporação (Andrade and Abe, 1997; Mokhatla et al., 2019).

No entanto, alguns anuros podem suportar as condições potencialmente desidratantes impostas, por exemplo, por ambientes áridos ou semiáridos (Shoemaker and Nagy, 1977), através de estratégias anatômicas, fisiológicas e comportamentais (Withers and Thompson, 2000). Devido ao clima e/ou estações mais quentes, algumas espécies de anuros podem entrar nesse estado hipometabólico de estivação para economizar energia, diminuir a perda de água para o ambiente e evitar a dessecação (McClanahan et al., 1983). Como observamos, a depressão metabólica não está condicionada a altas taxas metabólicas padrão, mas em anuros

que estivessem, por exemplo, as taxas metabólicas geralmente atingem menos de 30% dos valores de repouso (Carvalho et al., 2010).

5.3. Massa corpórea e taxas metabólicas

De acordo com nossas análises, as diferenças interespecíficas de massa corpórea explicaram, cerca de metade da variação da taxa metabólica padrão específica. A massa corpórea é, classicamente, um fator que influencia a taxa metabólica dos animais incluindo anfíbios anuros, juntamente com o nível de atividade (Navas et al., 2008). Segundo nossos resultados, a influência da massa corpórea sobre o metabolismo aeróbio de repouso foi praticamente a mesma entre as espécies que exibiam algum evento de depressão metabólica e aquelas que não ingressavam em hipometabolismo. Essa constatação de certa forma abre a possibilidade de investigarmos se outros fatores poderiam influenciar o metabolismo energético de anuros, em especial os hábitos alimentares (Timpone et al., 2019; Secor, 2005), o modo de forrageio (Taigen et al., 1982; Taigen e Pough, 1983), ou ainda a ocupação de diferentes ambientes com drásticas mudanças de produtividade primária (Withers, 1993).

5.4. Outras perspectivas sobre a ocorrência de depressão metabólica

Neste trabalho identificamos que há uma considerável variação das taxas metabólicas aeróbicas de repouso em anuros, não explicadas pela variação de massa corpórea e nem pela história de parentesco das espécies. Considerando o perfil de variação nos dados, é possível que outros fatores ecológicos ou comportamentais possam se relacionar à evolução do metabolismo em anfíbios anuros. Podemos levar em consideração, por exemplo, a ecofisiologia e a ocupação de diferentes ambientes, que são fatores normalmente investigados e que explicam parte da variação metabólica nos organismos (como em Mokhatla et al. (2019), Navas (1996), Chang and Hou (2005)).

Carvalho e colaboradores (2010) constaram que a maioria das espécies de anuros que ingressam em estivação ocorre em regiões áridas e semiáridas, com variação sazonal da disponibilidade de água e, conseqüentemente, na produtividade primária. Por outro lado, a presença de espécies de anuros que estiveram em regiões florestadas é pequena, com registros ocasionais de espécies que estiveram em savanas ou, no caso do Brasil, em áreas de cerrado (Abe e Garcia, 1990; Abe 1995; Bastos e Abe, 1998). Assim, podemos esperar que os eventos de depressão metabólica ocorram em espécies que ocupam ambientes de baixa produtividade

primária. Ainda, as taxas metabólicas padrão poderiam estar associadas a diferenças na disponibilidade de recursos que influenciam o balanço energético desses animais.

Os resultados desse estudo foram importantes para compreender melhor a ocorrência de depressão metabólica em anfíbios anuros e como as taxas metabólicas padrão evoluíram nas linhagens. Nossa identificação de que não existe uma correlação entre baixas taxas metabólicas padrão e a ocorrência de depressão metabólica, mostra que possivelmente existem outros fatores ainda não estudados, que ter interferido nesses eventos de variação da taxa metabólica padrão e que merecem atenção em futuros estudos.

6. CONCLUSÃO

Neste estudo testamos a relação entre a ocorrência de eventos de depressão metabólica e altas taxas metabólicas padrão (que reflete o custo de manutenção dos animais) em anfíbios anuros. A hipótese de que espécies de anuros nas quais há registro de hipometabolismo exibem as maiores taxas metabólicas padrão, foi refutada e, observamos ainda que parte da variação no consumo de oxigênio decorre da relação com a massa corpórea das espécies. O restante da variação não é estruturada filogeneticamente, o que nos permite deduzir que outros fatores ecofisiológicos podem ter sido determinantes para a evolução desse traço fisiológico importante.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe, A. S. (1995). Estivation in South American amphibians and reptiles. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, (11-12), 1241-1247
- Abe, A. S. & L. S. Garcia. 1990. Changes in body fluids of the frog *Leptodactylus fuscus* during estivation (Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 50: 243–247.
- Bastos, R.
- Andersen, J. B., & Wang, T. (2003). Cardiorespiratory Effects of Forced Activity and Digestion in Toads. *Physiological and Biochemical Zoology*, 76(4), 459–470.
<https://doi.org/10.1086/375439>
- Andrade, D. V., Bevier, C. R., & Carvalho, J. E. (2016). Amphibian and Reptile Adaptations to the Environment: Interplay Between Physiology and Behavior. *CRC Press Taylor & Francis Group*, 1ª edição.
- Angilletta, M. J. (2009). Thermal adaptation - A theoretical and empirical synthesis. *Oxford University Press Inc*, <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198570875.001.1>
- Angilletta, M. J. et al. (2010). The evolution of thermal physiology in endotherms. *Frontiers in Bioscience - Elite*, 2 E(3), 861–881. <https://doi.org/10.2741/e148>
- Angilletta, M. J., Niewiarowski, P. H., & Navas, C. A. (2002). The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology*, 27(4), 249–268. [https://doi.org/10.1016/s0306-4565\(01\)00094-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4565(01)00094-8)
- Bastos, R. P. & A. S. Abe. 1998. Dormancy in the Brazilian horned toad *Ceratophrys aurita* (Anura, Leptodactylidae). *Ciência e Cultura* 50: 68–69.
- Blomberg, S. P., Garland, T., & Ives, A. R. (2003). Testing for phylogenetic signal in comparative data: Behavioral traits are more labile. *Evolution*, 57(4), 717–745.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00285.x>
- Bolnick, D. I. et al. (2018). (Non) Parallel Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, August, (49) 303–330. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062240>
- Bucher, T. L., Ryan, M. J., & Bartholomew, G. A. (1982). Oxygen consumption during resting, calling, and nest building in the frog *Physalaemus pustulosus*. *Physiological Zoology*, 55(1), 10-22. Disponível em:
<<https://www.jstor.org/stable/30152507>>
- Burnham, K. P. & Anderson, D. R. (2002). *Model Selection and Multimodel Inference*. *Ecological Modelling*, 172(1), 96-97,
<https://doi.org/doi:10.1016/j.ecolmodel.2003.11.004>

- Carey, C. (1979). Aerobic and Anaerobic Energy Expenditure During Rest and Activity in Montane *Bufo b. boreas* and *Rana pipiens*. *Oecologia* (39), 213–228. <https://doi.org/10.1007/bf00348070>
- Carey, C. (1979). Effect of Constant and Fluctuating Temperatures on Resting and Active Oxygen Consumption of Toads, *Bufo boreas*. *Oecologia* 39(2), 201–212. <https://doi.org/10.1007/bf00348069>
- Carvalho, J. E., Navas, C. A., & Pereira, I. C. (2010). Aestivation Book Chapter 7 *Energy and Water in Aestivating Amphibians*. 49, 141–169. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02421-4>
- Chang, Y. M., & Hou, P. C. L. (2005). Thermal acclimation of metabolic rate may be seasonally dependent in the subtropical anuran latouche's frog (*Rana latouchii*, Boulenger). *Physiological and Biochemical Zoology*, 78(6), 947–955. <https://doi.org/10.1086/432924>
- Davies, S. J., McGeoch, M. A., & Clusella-Trullas, S. (2015). Plasticity of thermal tolerance and metabolism but not water loss in an invasive reed frog. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A : Molecular and Integrative Physiology*, 189, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.06.033>
- Delignette-Muller ML, Dutang C (2015). “fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions.” *Journal of Statistical Software*, 64(4), 1–34. Disponível em: <<https://www.jstatsoft.org/v64/i04/>>
- Depaoli, J. R., Segura, E. T., & Lascano, E. C. (1973). Effects of acclimation on oxygen consumption (QO₂) of the brain and its different areas in two genera of anurans. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 46(4), 725–733. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(73\)90124-2](https://doi.org/10.1016/0300-9629(73)90124-2)
- De Andrade, D. V., & Abe, A. S. (1997). Evaporative water loss and oxygen uptake in two casque-headed tree frogs, *Aparasphenodon bruno*i and *Corythomantis greeningi* (anura, hylidae). *Comparative Biochemistry and Physiology - A Physiology*, 118(3), 685–689. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(96\)00481-1](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(96)00481-1)
- Diniz-Filho, J. A. F. (2000). Métodos filogenéticos comparativos. 1ª ed., Holos editora.
- Elias, M., & Tawfik, D. S. (2012). Divergence and convergence in enzyme evolution: Parallel evolution of paraoxonases from quorum-quenching lactonases. *Journal of Biological Chemistry*, 287(1), 11–20. <https://doi.org/10.1074/jbc.R111.257329>
- Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist*, 125(1), 1–15. <https://doi.org/10.1086/284325>
- Ferreira, P. M. F., et al. (2009). Efeito da temperatura sobre a taxa metabólica da carpa-comum (c. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 4(2), 1–10.
- Ferreira-Cravo, M., Welker, A. F., & Hermes-Lima, M. (2010). The connection between oxidative stress and estivation in gastropods and anurans. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, 49, 47–61. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02421-4_3

- Flanigan, J. E., & Guppy, M. (1997). Metabolic depression and sodium-potassium ATPase in the aestivating frog, *Neobatrachus kunapalari*. *Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 167(2), 135–145. <https://doi.org/10.1007/s003600050057>
- Flanigan, J. E., et al. (1993). Metabolic depression and Na⁺/K⁺ gradients in the aestivating Australian goldfields frog, *Neobatrachus wilsmorei*. *Journal of Comparative Physiology B*, 163(7), 587–593. <https://doi.org/10.1007/BF00302118>
- Frost, D. R. et al. (2006). The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. New York: Amer Museum Natural History, n. 297, p. 8-370. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/31710>>.
- Fuery, C. J., et al. (1998). The role of protein synthesis during metabolic depression in the Australian desert frog *Neobatrachus centralis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 119(2), 469–476. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(97\)00453-4](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(97)00453-4)
- Garland, T., Bennett, A. F., & Rezende, E. L. (2005). Phylogenetic approaches in comparative physiology. *Journal of Experimental Biology*, 208(16), 3015–3035. <https://doi.org/10.1242/jeb.01745>
- Gil, N., & Katz, U. (1996). Oxygen consumption, heart rate and respiratory movements are maintained almost unchanged in toads (*Bufo viridis*) on soil without access to free water. *Journal of Arid Environments*, 33(2), 237–245. <https://doi.org/10.1006/jare.1996.0059>
- Glass, M. L., et al. (1997). Effects of dry season dormancy on oxygen uptake, heart rate, and blood pressures in the toad, *Bufo paracnemis*. *Journal of Experimental Zoology*, 279(4), 330–336. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19971101\)279:4<330::AID-JEZ2>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19971101)279:4<330::AID-JEZ2>3.0.CO;2-P)
- Gomes, F. R., et al. (2004). Intraspecific Relationships between Resting and Activity Metabolism in Anuran Amphibians: Influence of Ecology and Behavior. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77(2), 197-208. <https://doi.org/10.1086/381471>
- Gomez, N. A., et al. (2006). Wiping behavior, skin resistance, and the metabolic response to dehydration in the arboreal frog *Phyllomedusa hypochondrialis*. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79(6), 1058–1068. <https://doi.org/10.1086/507659>
- Gotelli, N. J., & Ellison, A. M. (2011). Princípios de estatística em ecologia. *Artmed editora*, 1º ed., p532.
- Grafe, T. U., & Thein, J. (2001). Energetics of calling and metabolic substrate use during prolonged exercise in the european treefrog *Hyla arborea*. *Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 171(1), 69–76. <https://doi.org/10.1007/s003600000151>
- Grafe, T. U. (1996). Energetics of vocalization in the African reed frog (*Hyperolius marmoratus*). *Comparative Biochemistry and Physiology - A Physiology*, 114(3), 235–243. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(95\)02132-9](https://doi.org/10.1016/0300-9629(95)02132-9)
- Groom, D. J. E., Kuchel, L., & Richards, J. G. (2013). Metabolic responses of the South

- American ornate horned frog (*Ceratophrys ornata*) to estivation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - B: Biochemistry and Molecular Biology*, 164(1), 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2012.08.001>
- Guppy, M. (2004). The biochemistry of metabolic depression: A history of perceptions. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 139(3 SPEC.ISS.), 435–442. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.02.019>
- Guppy, M., & Withers, P. (1999). Metabolic depression in animals: Physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biological Reviews*, 74(1), 1–40. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1999.tb00180.x>
- Hillman, S. S., & Withers, P. C. (1979). An analysis of respiratory surface area as a limit to activity metabolism in anurans. *Canadian Journal of Zoology*, 57(11), 2100–2105. <https://doi.org/10.1139/z79-277>
- Hillman, S.S.; et al. (2009) Ecological and Environmental Physiology of Amphibians. *Oxford University Press*.
- Hou, P. C. L., & Huang, S. P. (1999). Metabolic and ventilatory responses to hypoxia in two altitudinal populations of the toad, *Bufo bankorensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 124(4), 413–421. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(99\)00133-6](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(99)00133-6)
- Kayes, S. M., Cramp, R. L., & Franklin, C. E. (2009). Metabolic depression during aestivation in *Cyclorana alboguttata*. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 154(4), 557–563. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.09.001>
- Kiss, A. C. I., et al. (2009). Seasonal metabolic changes in a year-round reproductively active subtropical tree-frog (*Hypsiboas prasinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 152(2), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.09.011>
- Loverridge, J. P., & Withers, P. C. (1981). Metabolism and Water Balance of Active and Cocooned African Bullfrogs *Pyxicephalus adspersus*. *Physiological Zoology*, 54(2), 203–214. <https://doi.org/10.1086/physzool.54.2.30155821>
- McClanahan, Lon L., et al. (1983) Rate of Cocoon Formation and Its Physiological Correlates in a *Ceratophryd* Frog. *Physiological Zoology*, 56(3), 430–435. *Disponível em:* <www.jstor.org/stable/30152608>
- Mokhatla, M., Measey, J., & Smit, B. (2019). The role of ambient temperature and body mass on body temperature, standard metabolic rate and evaporative water loss in southern African anurans of different habitat specialisation. *PeerJ*, 2019(10). <https://doi.org/10.7717/peerj.7885>
- Münkemüller, T., et al. (2012). *How to measure and test phylogenetic signal. Methods in Ecology and Evolution*, 3(4), 743–756. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2012.00196.x>

- Navas, C. A. (1996). Implications of microhabitat selection and patterns of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans. *Oecologia*, 108(4), 617–626. <https://doi.org/10.1007/BF00329034>
- Navas, C. A., & Carvalho, J. E. (2010). Aestivation : molecular and physiological aspects. In *Progress in molecular and subcellular biology*, (Issue 49). <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-02421-4>
- Navas, C. A., Gomes, F. R., & Carvalho, J. E. (2008). Thermal relationships and exercise physiology in anuran amphibians: Integration and evolutionary implications. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 151(3), 344–362. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.07.003>
- Orme, D. et al. (2018). Caper: Comparative analyses of phylogenetics and evolution in R. *R Package version 1.0.1*. Disponível em: <<https://CRAN.R.org/package=caper>>
- Overgaard, J., et al. (2012). Aerobic scope and cardiovascular oxygen transport is not compromised at high temperatures in the toad *Rhinella marina*. *Journal of Experimental Biology*, 215(20), 3519–3526. <https://doi.org/10.1242/jeb.070110>
- Packard, G. C. (1972). Inverse Compensation for Temperature in Oxygen Consumption of the Hyliid Frog *Pseudacris triseriata*. *Physiological Zoology*, 45(3), 270–275. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/30152507>>
- Pagel, M. (1999). Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*, 401(6756), 877–884. <https://doi.org/10.1038/44766>
- Paradis, E., Claude, J., & Strimmer, K. (2004). APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20(2), 289–290. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg412>
- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). *Ape 5.0: An environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R*. *Bioinformatics* 35:526-528
- Pinder, A. W., & Burggren, W. W. (1986). Ventilation and partitioning of oxygen uptake in the frog *Rana pipiens*: effects of hypoxia and activity. *Journal of Experimental Biology*, 126, 453–468.
- Pough, F. H., & Taigen, T. L. (1990). Metabolic correlates of the foraging and social behaviour of dart-poison frogs. *Animal Behaviour*, 39(1), 145–155. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80734-1](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80734-1)
- Pörtner, H. O., MacLachy, L. M., & Toews, D. P. (1991). Metabolic Responses of the Toad *Bufo marinus* to Environmental Hypoxia: An Analysis of the Critical P o 2 . *Physiological Zoology*, 64(3), 836–849. <https://doi.org/10.1086/physzool.64.3.30158210>
- Pyron, R. A. (2014). Biogeographic analysis reveals ancient continental vicariance and recent oceanic dispersal in amphibians. *Systematic Biology*, 63(5), 779–797. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syu042>
- Pyron, A. R., & Wiens, J. J. (2011). A large-scale phylogeny of Amphibia including over

- 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61(2), 543–583. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.06.012>
- Revell, L. J. (2009). Size-correction and principal components for interspecific comparative studies. *Evolution*, 63(12), 3258–3268. doi:10.1111/j.1558-5646.2009.00804.x
- Revelle, W. (2020). *Psych: Procedures for personality and psychological research*, Northwestern University, Evanston, Illinois, USA. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=psych>> Version=2.0.12
- Revell, L. J. (2012). Phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol. Evol.* 3:217–223. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x>
- Rossi, G. S., et al. (2020). Frogs seek hypoxic microhabitats that accentuate metabolic depression during dormancy. *Journal of Experimental Biology*, 223(2). <https://doi.org/10.1242/jeb.218743>
- Schmidt-Nielsen, K. (2002) Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente. Grupo Gen - Santos editora 5º ed., São Paulo.
- Secor, S. M., Wooten, J. A., & Cox, C. L. (2007). Effects of meal size, meal type, and body temperature on the specific dynamic action of anurans. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 177(2), 165–182. <https://doi.org/10.1007/s00360-006-0119-2>
- Secor, S. M. (2005). Physiological responses to feeding, fasting and estivation for anurans. *Journal of Experimental Biology*, 208(13), 2595–2608. <https://doi.org/10.1242/jeb.01659>
- Seymour, R. S. (1973). Energy Metabolism of Dormant Spadefoot Toads (*Scaphiopus*). *Copeia*, 1973(3), 435. <https://doi.org/10.2307/1443107>
- Sherman, E., & Stephens, A. (1998). Fever and metabolic rate in the toad *Bufo marinus*. *Journal of Thermal Biology*, 23(1), 49–52. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(97\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(97)00045-4)
- Shoemaker, V., & Nagy, K. A. (1977). Osmoregulation in Amphibians and Reptiles. *Annual Review of Physiology*, 39(1), 449–471. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.39.030177.002313>
- Steyermark, A. C., et al. (2005). Physiological and morphological correlates of among-individual variation in standard metabolic rate in the leopard frog *Rana pipiens*. *Journal of Experimental Biology*, 208(6), 1201–1208. <https://doi.org/10.1242/jeb.01492>
- Storey, K. B. (2015). Regulation of hypometabolism: Insights into epigenetic controls. *Journal of Experimental Biology*, 218(1), 150–159. <https://doi.org/10.1242/jeb.106369>
- Storey, K.B. & Storey, J.M. (1990). Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation and estivation. *The Quarterly Review of Biology* 65, 145–174. <https://doi.org/10.1086/416717>

- Stuginski, D. R., et al. (2017). Phylogenetic analysis of standard metabolic rate of snakes: a new proposal for the understanding of interspecific variation in feeding behavior. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 188(2), 315–323. <https://doi.org/10.1007/s00360-017-1128-z>
- Taigen, T. L., & Pough, F. H. (1983). Prey preference, foraging behavior, and metabolic characteristics of frogs. *American Naturalist*, 122(4), 509–520. <https://doi.org/10.1086/284152>
- Taigen, T. L., Emerson, S. B., & Pough, F. H. (1982). Ecological correlates of anuran exercise physiology. *Oecologia*, 52(1), 49–56. <https://doi.org/10.1007/BF00349011>
- Timpone, L. T., Gavira, R. S. B., & Andrade, D. V. (2019). Effects of temperature and meal size on the postprandial metabolic response of *Leptodactylus latrans* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 333(2), 79–87. <https://doi.org/10.1002/jez.2326>
- Tracy, C. R., et al. (2007). Ecology of aestivation in a cocoon-forming frog, *Cyclorana australis* (Hylidae). *Copeia*, 2007(4), 901–912. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2007\)7\[901:EOAIAC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2007)7[901:EOAIAC]2.0.CO;2)
- Van Aardt, W. J., & Weber, R. E. (2010). Respiration and hemoglobin function in the giant african bullfrog *pyxicephalus adspersus tschudi* (anura: Pyxicephalidae) during rest, exercise and dormancy. *African Journal of Herpetology*, 59(2), 173–190. <https://doi.org/10.1080/21564574.2010.521197>
- Van Beurden, E. K. (1980). Energy Metabolism of Dormant Australian Water-Holding Frogs (*Cyclorana platycephalus*). *Copeia*, 1980(4), 787. <https://doi.org/10.2307/1444458>
- Walton, M., & Anderson, B. D. (1988). The aerobic cost of saltatory locomotion in the fowler's toad (*Bufo woodhousei fowleri*). *The Journal of Experimental Biology*, 136, 273–288.
- Ward, C. K., Appel, A. G., & Mendonça, M. T. (2006). Metabolic measures of male southern toads (*Bufo terrestris*) exposed to coal combustion waste. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 143(3), 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.12.023>
- Weathers, W. W., & Snyder, G. K. (1977). Relation of oxygen consumption to temperature and time of day in tropical anuran amphibians. *Australian Journal of Zoology*, 25(1), 1–7. <https://doi.org/10.1071/ZO9770019>
- Wells, K.D. (2007). *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Withers, P. C. (1993). Metabolic depression during aestivation in the Australian frogs, *neobatrachus* and *cyclorana*. *Australian Journal of Zoology*, 41(5), 467–473. <https://doi.org/10.1071/ZO9930467>
- Withers, P. C., & Cooper, C. E. (2010). Metabolic depression: a historical perspective. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, 49, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02421-4_1
- Withers, P. C., & Thompson, G. G. (2000). Cocoon formation and metabolic depression by

the aestivating hylid frogs *Cyclorana australis* and *Cyclorana cultripes* (Amphibia: Hylidae). *Journal of the Royal Society of Western Australia*, 83(1), 39–40.

Young, K. M., Cramp, R. L., White, C. R., & Franklin, C. E. (2011). Influence of elevated temperature on metabolism during aestivation: Implications for muscle disuse atrophy. *Journal of Experimental Biology*, 214(22), 3782–3789.
<https://doi.org/10.1242/jeb.054148>

ANEXO A

Tabela A1. Relação de espécies e famílias, consumo de oxigênio específico no repouso (VO₂), massa corpórea média das espécies (g) e ausência (A) ou presença (P) de comportamento de depressão metabólica.

Família / espécies	Depressão metabólica	VO ₂ – 20°C (mLO ₂ /g/h)	Massa Corpórea (g)	Referências
Hylidae				
<i>Agalychnis callidryas</i>	NÃO	0,0610	5,7	Taigen et al. 1982
<i>Aparasphenodon brunoi</i>	NÃO	0,0603	19,13	Andrade and Ahe 1996
<i>Corythomantis greeningi</i>	NÃO	0,0479	17,05	Andrade and Ahe 1996
<i>Cyclorana alboguttata</i>	SIM	0,0238	20,8	Rossi et al. 2020
<i>Cyclorana australis</i>	SIM	0,1001	44,2	Withers and Thompson 2000
<i>Cyclorana cultripes</i>	SIM	0,1017	11,7	Withers and Thompson 2001
<i>Cyclorana maini</i>	SIM	0,0424	5,11	Withers 1993
<i>Cyclorana platycephala</i>	SIM	0,0296	21,86	Withers 1993
<i>Hyla arborea</i>	NÃO	0,0770	6,3	Grafe and Thein 2000
<i>Hyla arenicolor</i>	NÃO	0,0930	3,4	Taigen et al. 1982
<i>Hyla chrysoscelis</i>	NÃO	0,1290	5,47	Navas 1996
<i>Hyla cinerea</i>	NÃO	0,0410	8,87	Secor et al. 2006
<i>Pseudacris crucifer</i>	NÃO	0,1110	1,3	Taigen et al. 1982
<i>Dendropsophus labialis</i>	NÃO	0,0980	7,45	Navas 1996
<i>Dendropsophus microcephalus</i>	NÃO	0,1190	0,67	Navas 1996
<i>Hypsiboas prasinus</i>	NÃO	0,1052	4,87	Kiss et al. 2008
<i>Osteopilus septentrionalis</i>	NÃO	0,0660	5	Taigen et al. 1982
<i>Phyllomedusa hypochondrialis</i>	NÃO	0,0331	2,65	Gomez et al. 2006
<i>Smilisca fodiens</i>	NÃO	0,0320	15,1	Taigen et al. 1982
Buфонidae				
<i>Bufo alvarius</i>	NÃO	0,0136	140	Secor 2005
<i>Bufo americanus</i>	NÃO	0,0510	27	Taigen et al. 1982
<i>Bufo boreas</i>	NÃO	0,0562	27,3	Hillman and Withers 1978
<i>Bufo calamita</i>	NÃO	0,0580	8,7	Taigen et al. 1982
<i>Bufo cognatus</i>	NÃO	0,0169	75,2	Secor et al. 2006
<i>Bufo marinus</i>	NÃO	0,0336	97	Overgaard et al. 2012
<i>Bufo terrestris</i>	NÃO	0,1671	15	Ward et al. 2006
<i>Bufo viridis</i>	NÃO	0,0719	35,8	Gil and Katz 1995
<i>Bufo woodhousii</i>	NÃO	0,1260	25,8	Walton and Anderson 1987
<i>Bufo schneideri</i>	SIM	0,0313	191,7	Senzano and Adrade 2018
Ranidae				

<i>Rana catesbeiana</i>	NÃO	0,0253	238	Secor 2005
<i>Rana chalconota</i>	NÃO	0,0603	4,1	Weathers and Snyder 1977
<i>Hylarana nicobariensis</i>	NÃO	0,0623	2,6	Weathers and Snyder 1977
<i>Rana pipiens</i>	NÃO	0,4100	34,8	Carey 1979
<i>Rana sylvatica</i>	NÃO	0,0850	12,7	Taigen et al. 1982
Dendrobatidae				
<i>Colostethus inguinalis</i>	NÃO	0,0830	1,57	Pough and Taigen 1990
<i>Silverstoneia nubicola</i>	NÃO	0,1120	0,28	Pough and Taigen 1990
<i>Allobates talamancae</i>	NÃO	0,0884	0,95	Pough and Taigen 1990
<i>Dendrobates auratus</i>	NÃO	0,0680	2,09	Pough and Taigen 1990
<i>Hyloxalus subpunctatus</i>	NÃO	0,1370	0,65	Navas 1996
Hyperoliidae				
<i>Hyperolius marmoratus</i>	NÃO	0,0822	2	Grafe 1996
<i>Hyperolius viridiflavus</i>	NÃO	0,0940	0,9	Taigen et al. 1982
<i>Kassina senegalensis</i>	NÃO	0,0770	3	Taigen et al. 1982
<i>Semnodactylus wealii</i>	NÃO	0,0540	6,3	Taigen et al. 1982
Eleutherodactylidae				
<i>Pristimantis bogotensis</i>	NÃO	0,1320	0,91	Navas 1996
<i>Diasporus diastema</i>	NÃO	0,0980	0,54	Navas 1996
Leptodactylidae				
<i>Leptodactylus ocellatus</i>	NÃO	0,0272	116,89	Timpone et al. 2019
<i>Leptodactylus pentadactylus</i>	NÃO	0,0201	173	Secor 2005
<i>Engystomops pustulosus</i>	NÃO	0,2019	1,66	Bucher et al. 1981
Microhylidae				
<i>Dyscophus antongilii</i>	NÃO	0,0139	44,7	Secor et al. 2006
<i>Gastrophryne carolinensis</i>	NÃO	0,0520	1,9	Taigen et al. 1982
<i>Kaloula pulchra</i>	NÃO	0,0260	30,7	Taigen et al. 1982
Myobatrachidae				
<i>Platyplectrum spenceri</i>	NÃO	0,0537	6,82	Withers 1993
<i>Neobatrachus sudelli</i>	SIM	0,0625	13,5	Fuery et al. 1997
<i>Neobatrachus pelobatoides</i>	SIM	0,0824	8,03	Withers 1993
Alytidae				
<i>Discoglossus pictus</i>	NÃO	0,0370	30,7	Taigen et al. 1982
Bombinatoridae				
<i>Bombina orientalis</i>	NÃO	0,0560	2,6	Taigen et al. 1982
Ceratophryidae				
<i>Ceratophrys ornata</i>	NÃO	0,0145	169	Secor 2005
Dicroglossidae				

<i>Limnonectes blythii</i>	NÃO	0,0312	88,7	Weathers and Snyder 1977
Odontophrynidae				
<i>Odontophrynus americanus</i>	NÃO	0,0372	15,2	Taigen et al. 1982
Pipidae				
<i>Xenopus laevis</i>	NÃO	0,0852	29,3	Hillman and Withers 1978
Pyxicephalidae				
<i>Pyxicephalus adspersus</i>	SIM	0,0370	520	Loveridge and Withers 1981
Scaphiopodidae				
<i>Scaphiopus couchii</i>	SIM	0,0675	27,77	Beurden 1980

ANEXO 2



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



São Paulo, 31 de agosto de 2020
CEP N [5815030820](#)

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a): José

Eduardo De Carvalho

Depto/Disc: Ecologia E

Biologia Evolutiva

Pesquisadores associados: Bianca Meira Gonçalves Flores (unifesp Campus Diadema); José Eduardo De Carvalho (orientador)

Título do projeto: "Relação entre as taxas metabólicas padrão e a ocorrência de depressão metabólica em anfíbios anuros".

Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa UNIFESP/HSP

Trata-se de projeto com a participação do aluno de graduação, Bianca Meira Gonçalves Flores, do curso de Ciências Biológicas, UNIFESP. Orientador: Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho

O objetivo desse trabalho é investigar de que forma as taxas metabólicas padrão de algumas espécies de anfíbios anuros estão relacionadas com eventos de depressão metabólica, em alguma de suas manifestações. Especificamente, faremos um levantamento de informações disponíveis na literatura a respeito das taxas metabólicas padrão de anuros e, através de uma análise comparativa considerando as relações filogenéticas entre as espécies, buscaremos testar a hipótese de relação positiva entre o custo de manutenção e a ocorrência de eventos de depressão metabólica. Devido ao grande número de artigos disponíveis referentes a esse assunto, neste trabalho iremos realizar um amplo levantamento de informações, além de uma revisão da bibliografia existente para coletar dados de taxa metabólica padrão do maior número de espécies de anfíbios anuros possível. Com esse levantamento, iremos buscar por resultados já publicados sobre espécies que manifestam algum estado de hipometabolismo (estivação, hibernação ou anaerobiose), assim como de espécies que não exibem algum tipo de hipometabolismo. Usaremos a plataforma científica 'Web of Science (Clarivate Analytics)' como ferramenta principal para encontrar artigos existentes sobre o assunto. As informações e variáveis de interesse nesse projeto são: 'espécie', 'taxa metabólica padrão' ou 'taxa metabólica de repouso', 'taxa metabólica em atividade', 'taxa metabólica durante a depressão metabólica', 'massa corpórea' e 'temperatura' em que foi realizada a medida.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo, na reunião de 07/08/2020,

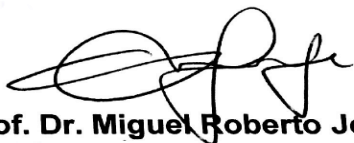
ANALISOU e APROVOU o protocolo de estudo acima referenciado. A partir desta data, é dever do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do protocolo.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do protocolo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro

por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

4. **Relatórios parciais** de andamento deverão ser enviados **anualmente** ao CEP até a conclusão do protocolo.

Atenciosamente,



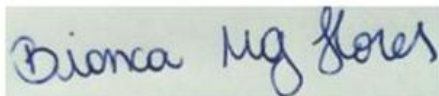
Prof. Dr. Miguel Roberto Jorge

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Rua Botucatu, 572, 1º andar conjunto 14 CEP 04023-061 São Paulo - tel: 55
(11) 5571-1062 / fax: 55 (11) 5539-7162

Horário de atendimento: Segundas, Terças, Quintas e Sextas, das 9:00 as
13:00hs : e-mail: cep@unifesp.edu.br

CEP Nº [5815030820](#)



Bianca Meira Gonçalves Flores

Aluna



Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho

Orientador



Comissão de Estágio
Curso de Ciências Biológicas
UNIFESP - Campus Diadema

Comissão de Estágios

Curso de Ciências Biológicas – UNIFESP